

**ULTRASTRUCTURE DES PAROIS DES POLLINIES
DE CALOTROPIS PROCERA (AIT.) AIT. F.
(ASCLEPIADACEÆ)**

L. DAN DICKO-ZAFIMAHOVA

DAN DICKO-ZAFIMAHOVA, L. — 16.06.1978. Ultrastructure des parois des pollinies de *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. (Asclepiadaceæ), *Adansonia*, ser. 2, 17 (4) : 455-463. Paris. ISSN 0001-804X.

RÉSUMÉ : L'étude ultrastructurale des parois des pollinies de *Calotropis procera* (Asclepiadaceæ) en microscopies électroniques à balayage et par transmission a permis de déceler dans l'enveloppe commune la présence d'un tectum compact, d'une strate infratectale grenue et d'une strate (ou couche) interne feuilletée.

ABSTRACT : Ultrastructural study of pollinia of *Calotropis procera* (Asclepiadaceæ) by means of scanning and transmission electron microscopes shows a compact tectum in the common wall, granular infratectal stratum and internal lamellated stratum (or layer).

Léontine Dan Dicko-Zafimahova, Laboratoire de Paléontologie, 8, rue Buffon, 75005 Paris, France.

INTRODUCTION

Ayant entrepris une étude morphologique et biologique de *Calotropis procera* (DAN DICKO, 1975), il nous a paru intéressant de compléter ces observations par des recherches concernant l'ultrastructure des parois des pollinies. *Calotropis procera* appartient à la famille des *Asclepiadaceæ*, sous-famille des *Cynanchoideæ* (SCHUMANN, 1895), caractérisée par des pollens agglomérés en masse ou pollinie. Seuls jusqu'à ce jour des travaux en microscopie photonique ont été réalisés sur les pollinies d'*Asclepiadaceæ* (VAN CAMPO, 1957; EL GAZZAR & HAMZA, 1973, 1974). L'apport de la microscopie électronique a été fondamental dans ce travail; les résultats nouveaux sont bien sûr très ponctuels, mais ils donnent une idée de l'intérêt de l'étude de la structure exinique de ce groupe.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Les échantillons proviennent de récoltes personnelles faites dans les régions sahéliennes de l'Afrique tropicale, notamment de Niamey (Niger), de Dakar (Sénégal). Les pollinies ont été prélevées sur des fleurs épanouies et sur des boutons floraux à un stade avancé de leur développement. Le matériel a été utilisé frais ou conservé dans l'alcool à 50°.

Pour l'observation au microscope photonique, les pollinies ont été trai-

tées suivant deux méthodes, celle de WODEHOUSE (1933) et celle d'ERDTMAN (1952), légèrement modifiée (HIDEUX, 1972). Le temps d'ébullition dans le mélange acétolysant est réduit à 90 secondes étant donnée la fragilité du matériel.

Pour l'observation au microscope électronique à balayage (MEB), le matériel a été utilisé soit frais non traité, soit acétolysé. Les pollinies ont été observées entières ou coupées transversalement. Les observations ont été faites sur un MEB de type MB1 (Camebax), à une tension accélératrice de 25 kvolts.

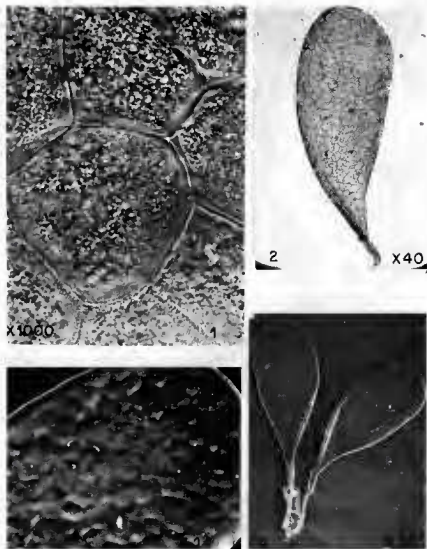
Pour l'observation au microscope électronique à transmission (MET), les pollinies ont été traitées par E. GRAFSTRÖM selon la méthode classique utilisée au laboratoire de Palynologie du Muséum d'Histoire Naturelle de Stockholm (Directeur S. NILSSON) : fixation au glutaraldéhyde et post-fixation au tétr oxyde d'osmium. Les coupes minces ont été contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1) La pollinie de *Calotropis procera* est un organe fusiforme ($1500 \times 600 \mu\text{m}$), aplati, arrondi à une extrémité, rétréci au point d'insertion du caudicule ($400 \mu\text{m}$). Les pollinies sont groupées deux à deux et rattachées au rétinacle ($500 \mu\text{m}$) par l'intermédiaire de leur caudicule (Pl. 5, 1). L'observation en microscopie photonique de la surface externe d'une pollinie acétolysée (Pl. 1, 2) ou non (Pl. 1, 1), montre à travers son enveloppe que les éléments constituant la masse pollinique sont disposés côte à côte en quinconce. Ils possèdent une enveloppe commune, continue, d'environ $9 \mu\text{m}$, mais pouvant atteindre $15 \mu\text{m}$ dans la partie rétrécie de la pollinie, pour ne plus mesurer que 4 à $5 \mu\text{m}$ au niveau d'une zone préférentielle fragile, que l'on peut assimiler à une zone germinative. En effet, en faisant séjourner une pollinie dans un milieu glucosé à 10% elle germe au bout de 60 à 90 minutes. Un grand nombre de tubes sortent toujours du même côté (Pl. 5, 1). Par écrasement, on obtient la libération des éléments polliniques qui ont germé et qui sont munis de leur tube (Pl. 5, 2). Cette zone germinative a été observée par JAEGER (1971) sur *Calotropis procera* et par WYATT (1976) sur *Asclepias*.

Il est difficile de distinguer les différentes couches de l'enveloppe commune. En coupe optique, elle présente une structure très compacte dans sa plus grande épaisseur (apparemment dépourvue de columelles) et avec une partie basale très mince stratifiée, plus contrastée (Pl. 3, 1). Les différents éléments polliniques sont réunis les uns aux autres (Pl. 1, 1; et Pl. 3, 1) par la partie la plus interne de cette enveloppe commune ($2 \mu\text{m}$) qui délimite un cytoplasme dense non vacuolé. Cependant les éléments polliniques ne sont pas toujours jointifs et présentent parfois des méats (Pl. 2, 1).

2) Les observations en MEB ont permis de remarquer à la surface externe des pollinies des protubérances correspondant aux éléments polli-



Pl. 1. — *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. : — en microscopie photonique : 1, portion de la surface externe d'une pollinie non acétolysée (méthode de WODEHOUSE); 2, pollinie entière acétolysée; — en microscopie électronique à balayage (MEB) : 3, portion de pollinie; 4, couple de pollinies.

niques internes, avec une surface lisse ne présentant pas de perforations (Pl. 1, 3-4). Il est intéressant de remarquer que la pollinie ne forme que deux rangées d'éléments polliniques superposés (Pl. 4, 1), parfois trois (Pl. 4, 2), disposés en quinconce. La coupe de la paroi commune est rela-

tivement compacte (Pl. 3, 3), néanmoins on peut discerner sous la partie externe, la plus homogène, des éléments globuleux de sporopollénine. Une autre cassure (Pl. 4, 3) montre des granules de sporopollénine libres à leur base et reposant sur une couche interne pluristratifiée. Quant à la paroi qui entoure les différents éléments polliniques, elle est très réduite en épaisseur et apparaît essentiellement constituée par des éléments globuleux de sporopollénine (Pl. 3, 3; 4, 3), reposant sur une couche plus ou moins ondulée et stratifiée.

3) Une étude entreprise au MET a permis de confirmer et de préciser les données précédentes. La paroi commune de la pollinie est constituée de trois parties. La plus externe, compacte, que l'on peut assimiler à un tectum (Pl. 4, 4) et directement reliée à une partie moyenne très épaisse, formée de grains de taille extrêmement variable, libres et espacés vers l'intérieur, soudés en amas globuleux et massifs vers l'extérieur, séparés par d'étroits méats et parfois à peine distincts à proximité du tectum. Enfin la partie profonde de cette paroi est constituée de plusieurs feuillets, parfois libres ou le plus souvent soudés sur une distance plus ou moins longue (Pl. 3, 2; 4, 4).

La paroi exinique commune est donc constituée d'une *strate externe compacte*; le tectum, d'une *strate infratectale grenue* (VAN CAMPO & LUGARDON, 1973) très épaisse devenant de plus en plus compacte à proximité du tectum, et d'une *strate ou couche interne feuilletée* (LUGARDON & LE THOMAS, 1974) dont il est difficile de préciser la véritable nature (strate ectexinique ou couche endexinique), le contraste électronique étant apparemment le même que celui du reste de l'exine. A la jonction des éléments polliniques, sur les faces latérales et internes, l'exine est réduite aux grains les plus petits de la strate grenue profonde, disséminés entre les feuillets de la strate ou couche interne de l'exine (Pl. 4, 4).

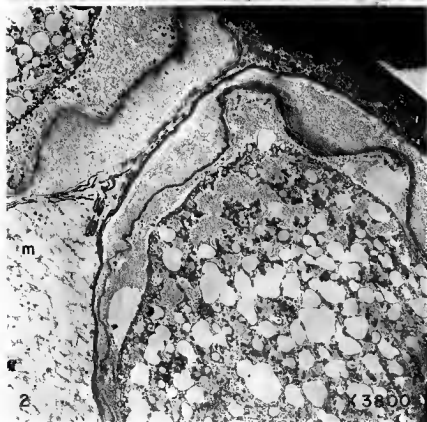
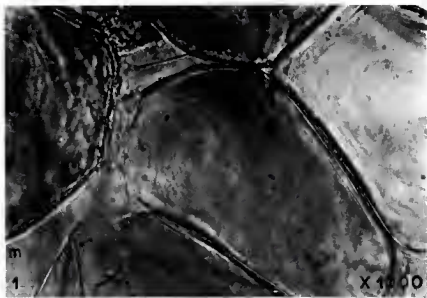
CONCLUSION

Les pollinies de *Calotropis procera* pourraient avoir des analogies avec certaines tétrades et polyades calymmés (VAN CAMPO & GUINET, 1961; SKVARLA & LARSON, 1963; ROLAND, 1965; GUINET & BARTH, 1967) puisque le tectum ne pénètre pas entre chaque élément de la pollinie et constitue donc une strate protectrice tout à fait externe.

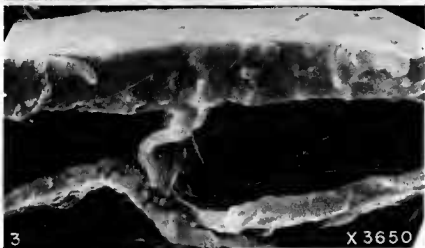
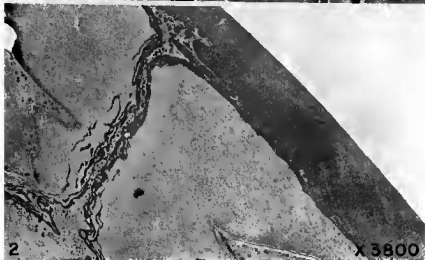
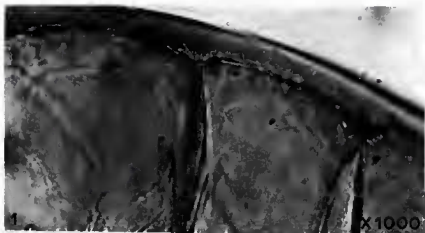
Elles pourraient être comparées aux pollinies des *Orchidaceæ*. Si elles diffèrent par la forme, pollinies groupées par quatre, constituées de tétrades en écailles (DULJEU, 1973), la structure de la paroi exinique rappelle tout à fait celle grenue et feuilletée des *Orchidaceæ* (SCHILL & PFEIFFER, 1977).

Il est intéressant aussi de noter que l'on retrouve des types de structure semblables dans des groupes très primitifs tels que les *Annonaceæ* et en particulier chez certaines exines particulièrement compactes (LE THOMAS & LUGARDON, 1976).

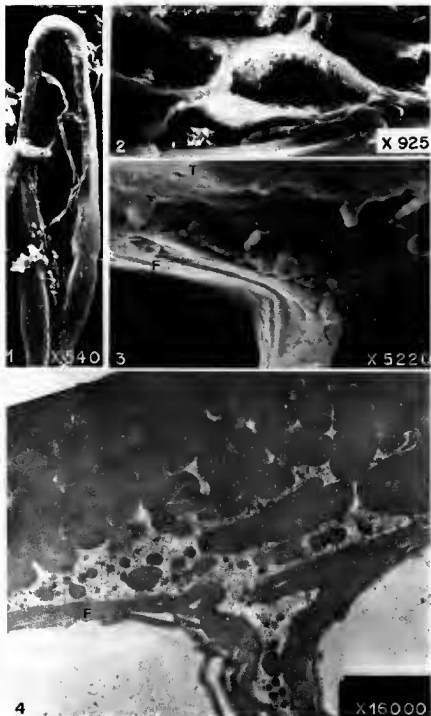
Enfin cette structure grenue rappelle celle observée par VAN CAMPO



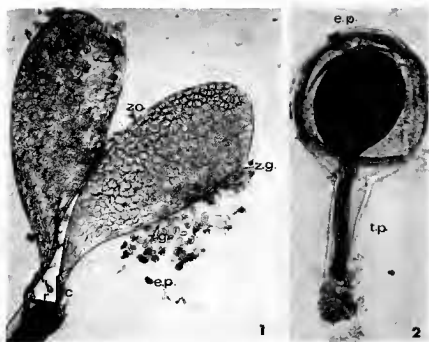
Pl. 2. — *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. : 1, en microscopie photonique, portion de la surface externe d'une pollinie acétolysée; 2, en microscopie électronique à transmission (MET), deux portions d'éléments polliniques avec l'exine, la cloison entre les éléments polliniques et l'intine (*m* = meat).



Pl. 3. — *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. : 1, en microscopie photonique, portion de la surface externe d'une pollinie acétolysée avec enveloppe commune et cloison = partie la plus interne de l'enveloppe commune entourant les différents éléments de la pollinie; 2, en microscopie électronique à transmission (MET), coupe transversale d'une pollinie, enveloppe et cloison; 3, en microscopie électronique à balayage (MEB), coupe transversale d'une pollinie, enveloppe et cloison.



Pl. 4. — *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. : — en microscopie électronique à balayage (MEB) : 1, coupe transversale d'une pollinie, épaisseur formée de deux rangées d'éléments polliniques; 2, *id.*, épaisseur formée de trois rangées d'éléments polliniques; 3, paroi formée de T = tectum, G = strate grenue, F = strate ou couche feuilletée; — en microscopie électronique à transmission (MET) : 4, exine avec T, G et F.



Pl. 5. — *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. : 1, en microscopie photonique, couple de pollinies (*c* = caudicule, *r* = rétinacle, *z.g.* = zone germinative, *z.o.* = zone opposée à la zone germinative, *e.p.* = élément pollinique); 2, en microscopie photonique, élément pollinique (*e.p.*) avec tube pollinique (*t.p.*).

& LUGARDON (1973) chez *Nerium oleander* (*Apocynaceæ*), groupe très voisin des *Asclepiadaceæ*, l'un et l'autre appartenant à l'ordre des Apocynales (HUTCHINSON & DALZIEL, 1963). Des recherches ontogéniques en cours vont permettre d'éclaircir et de préciser la nature des différentes couches de l'exine et la potentialité germinative des différents éléments polliniques.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre reconnaissance à M. le Professeur LEHMAN, Paris, qui nous a facilité l'accès au microscope électronique à balayage. M. le Professeur S. NILSSON et son équipe avec M^{lle} E. GRAFSTRÖM ont bien voulu nous accueillir dans leur laboratoire, Stockholm Sweden, et nous ont permis d'utiliser leur microscope électronique à transmission; nous les en remercions très vivement. Nos remerciements vont tout particulièrement à M^{me} CERCEAU, Maître de Recherche au C.N.R.S. qui nous a prodigué ses conseils et encouragements. Nous remercions également M^{me} ROLAND, Maître-Assistant à l'Université Pierre et Marie Curie et M^{me} LE THOMAS, Directeur-Adjoint à l'E.P.H.E.

BIBLIOGRAPHIE

- DAN DICKO, L., 1975. — Contribution à l'étude morphologique et biologique de *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. (Asclepiadaceae), Thèse de 3^e Cycle, texte ronéotypé, 155 p., Université Pierre et Marie Curie, Paris.
- DULIEU, D., 1973. — Étude morphologique de la surface pollinique de *Ponthieva maculata* Lindl. (Orchidaceae) en microscopie électronique à balayage, *Adansonia*, ser. 2, 13 (2) : 229-234.
- ERDTMAN, G., 1952. — *Pollen Morphology and Plant Taxonomy*, Angiosperms, 539 p., Stockholm.
- EL GAZZAR, A. & HAMZA, M. K., 1973. — Morphology of the twin pollinia of Asclepiadaceae, *Pollen et Spores* 15 (3-4) : 459-470.
- EL GAZZAR, A., HAMZA, M. K. & BADAWI, A. A., 1974. — Pollen Morphology and Taxonomy of Asclepiadaceae, *Pollen et Spores* 16 (2) : 227-238.
- GUINET, Ph. & BARTH, O. M., 1967. — L'exine des *Calliandra* (Mimosaceae) observé en microscopie photonique et en microscopie électronique, *Pollen et Spores* 9 (2) : 211-227.
- HIDEUX, M., 1972. — Techniques d'étude du pollen au MEB : effets comparés des différents traitements physico-chimiques, *Micron* 3 (1) : 1-51.
- HUTCHINSON, J. & DALZIEL, J. M., 1963. — *Flora of West Tropical Africa*, ed. 2, 2, London, XI, 544 p.
- JAEGER, P., 1971. — Contribution à l'étude de la biologie florale des Asclépiadacées, le *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. in Palynologie africaine 10, *Bull. I.F.A.N.*, ser. A, 23 (1) : 32-43.
- LE THOMAS, A. & LUGARDON, B., 1974. — Quelques types de structure grenue dans l'ectexine de pollens simples d'Annonacées, *C.R. A. Sc. Paris*, ser. D, 278 : 1187-1190.
- LE THOMAS, A. & LUGARDON, B., 1974. — Sur la structure de la couche basale de l'ectexine chez diverses Annonacées, *C.R. A. Sc. Paris*, ser. D, 279 : 255-258.
- LE THOMAS, A. & LUGARDON, B., 1976. — De la structure grenue à la structure columellaire dans le pollen des Annonacées, *Adansonia*, ser. 2, 15 (4) : 453-572.
- ROLAND, F., 1965. — Précisions sur la structure et l'ultrastructure d'une tétrade calymmée, *Pollen et Spores* 7 (1) : 5-8.
- SCHILL, R. & PFEIFFER, W., 1977. — Untersuchungen an Orchideenpollinien unter besonderer Berücksichtigung ihrer feinskulpturen, *Pollen et Spores* 19 (1) : 5-118.
- SCHUMANN, K., 1895. — Asclepiadaceae, in ENGLER & PRANTL, *Die Natürlichen Pflanzenfamilien* 4 (2) : 189-309.
- SKVARLA, J. J. & LARSON, D. A., 1963. — Nature of cohesion within pollen tetrads of *Typha latifolia*, *Science* 140 (3563) : 173-175.
- VAN CAMPO, M., 1957. — *Leptadenia pyrotechnica* DCne et *Pergularia tomentosa* L., in Palynologie Africaine. I. *Bull. I.F.A.N.*, ser. A, 19 (3), tab. 3-4.
- VAN CAMPO, M. & GUINET, Ph., 1961. — Les pollens composés, L'exemple des Mimosacées, *Pollen et Spores* 3 (2) : 201-218.
- VAN CAMPO, M. & LUGARDON, B., 1973. — Structure grenue infratectale de l'ectexine des pollens de quelques Gymnospermes et Angiospermes, *Pollen et Spores* 15 (2) : 171-187.
- WODEHOUSE, R. P., 1933. — Preparation of pollen for microscopic examination, *Bull. Torr. Bot. Club* 60 : 417-421.
- WYATT, R., 1976. — Pollinisation and fruit-set in *Asclepias* : a reappraisal. *Amcr. J. Bot.* 63 (6) : 845-851.